

PCT
 WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
 Internationales Büro
 INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
 INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)



| | | | |
|---|--|-----------|---|
| (51) Internationale Patentklassifikation ⁶ : C12Q 1/68 | | A2 | (11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 99/57310 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 11. November 1999 (11.11.99) |
| (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP99/02918 (22) Internationales Anmeldedatum: 29. April 1999 (29.04.99) (30) Prioritätsdaten: 198 19 537.0 30. April 1998 (30.04.98) DE (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): BIOCHIP TECHNOLOGIES GMBH [DE/DE]; Engesserstrasse 4b, D-79108 Freiburg (DE). (72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): BERNAUER, Hubert, S. [DE/DE]; Webergasse 38, D-79249 Merzhausen (DE). (74) Anwalt: VOSSIUS & PARTNER; Siebertstrasse 4, D-81675 München (DE). | | | (81) Bestimmungsstaaten: AE, AL, AM, AT, AT (Gebrauchsmuster), AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE (Gebrauchsmuster), DK, DK (Gebrauchsmuster), EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG). Veröffentlicht <i>Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.</i> |

(54) Title: INSTRUMENT FOR ANALYSIS AND DIAGNOSTICS

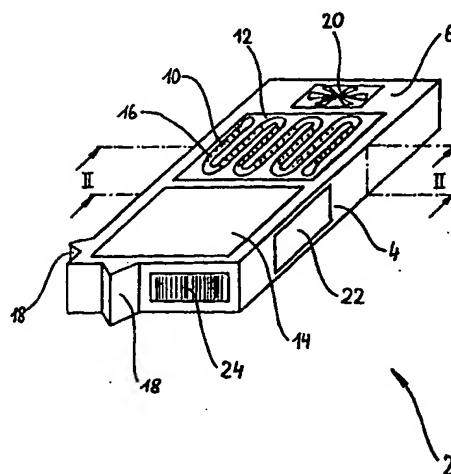
(54) Bezeichnung: ANALYSE- UND DIAGNOSTIKINSTRUMENT

(57) Abstract

The invention relates to an analysis and diagnostics instrument – an analysis chip for examining biological samples. Said analysis chip essentially consists of a support on whose surface at least one biomolecular matrix is applied in the form of dots, each dot in the matrix representing an individual species of molecule. The biological sample to be examined is allowed to flow through a microfluidic structure. Preferably at least one medium is provided on the surface of the support, the biomolecular matrix being located on said medium. The analysis chip also has an optical lens field and optionally, optical gratings which are arranged in such a way as to correspond to the biomolecular matrix. An analysis of the biological sample can then be carried out by real-time measurement of the hybridisation with detection of the mass attachment or detection of fluorochrome molecules which were previously built into the probe material.

(57) Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft ein Analyse- bzw. Diagnostikinstrument – kurz Analysechip – mit dem biologische Proben untersucht werden können. Der Analysechip besteht im wesentlichen aus einem Träger, auf dessen Oberfläche mindestens eine Biomolekülmatrix in Form von Dots aufgebracht ist, wobei jeder Punkt der Matrix eine individuelle Molekülspezies repräsentiert und die zu untersuchende biologische Probe durch eine mikrofluidische Struktur strömt. An der Oberfläche des Trägers ist vorzugsweise mindestens ein Medium vorgesehen, auf dem sich die Biomolekülmatrix befindet. Der Analysechip weist ferner ein optisches Linsenfeld und gegebenenfalls entsprechend der Biomolekülmatrix angeordnete optische Gitter auf, so dass eine Auswertung der biologischen Probe durch Echtzeit-Messung der Hybridisierung mit einem Nachweis der Massenlagerung oder ein Nachweis von Fluorochrommolekülen, die zuvor in das Sondenmaterial eingebaut wurden, möglich ist.



BEST AVAILABLE COPY

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

| | | | | | | | |
|----|------------------------------|----|-----------------------------------|----|---|----|--------------------------------|
| AL | Albanien | ES | Spanien | LS | Lesotho | SI | Slowenien |
| AM | Armenien | FI | Finnland | LT | Litauen | SK | Slowakei |
| AT | Österreich | FR | Frankreich | LU | Luxemburg | SN | Senegal |
| AU | Australien | GA | Gabun | LV | Lettland | SZ | Swasiland |
| AZ | Aserbaidshan | GB | Vereinigtes Königreich | MC | Monaco | TD | Tschad |
| BA | Bosnien-Herzegowina | GE | Georgien | MD | Republik Moldau | TG | Togo |
| BB | Barbados | GH | Ghana | MG | Madagaskar | TJ | Tadschikistan |
| BE | Belgien | GN | Guinea | MK | Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien | TM | Turkmenistan |
| BF | Burkina Faso | GR | Griechenland | ML | Mali | TR | Türkei |
| BG | Bulgarien | HU | Ungarn | MN | Mongolei | TT | Trinidad und Tobago |
| BJ | Benin | IE | Irland | MR | Mauretanien | UA | Ukraine |
| BR | Brasilien | IL | Israel | MW | Malawi | UG | Uganda |
| BY | Belarus | IS | Island | MX | Mexiko | US | Vereinigte Staaten von Amerika |
| CA | Kanada | IT | Italien | NE | Niger | UZ | Usbekistan |
| CF | Zentralafrikanische Republik | JP | Japan | NL | Niederlande | VN | Vietnam |
| CG | Kongo | KE | Kenia | NO | Norwegen | YU | Jugoslawien |
| CH | Schweiz | KG | Kirgisistan | NZ | Neuseeland | ZW | Zimbabwe |
| CI | Côte d'Ivoire | KP | Demokratische Volksrepublik Korea | PL | Polen | | |
| CM | Kamerun | KR | Republik Korea | PT | Portugal | | |
| CN | China | KZ | Kasachstan | RO | Rumänien | | |
| CU | Kuba | LC | St. Lucia | RU | Russische Föderation | | |
| CZ | Tschechische Republik | LI | Liechtenstein | SD | Sudan | | |
| DE | Deutschland | LK | Sri Lanka | SE | Schweden | | |
| DK | Dänemark | LR | Liberia | SG | Singapur | | |
| EE | Estland | | | | | | |

Analyse- und Diagnostikinstrument

Die Erfindung betrifft ein Analyse- und Diagnostikinstrument zur Untersuchung von biologischen Proben, insbesondere von DNA-Molekülen.

Im Bereich der biologischen und medizinischen Labortechnik ist eine Reihe von Analyse- bzw. Diagnostikinstrumenten bekannt. In bestimmten Ausgestaltungen werden diese üblicherweise auch als Analysechips bezeichnet. Ist der Analysechip zur Untersuchung von DNA-Molekülen vorgesehen, so nennt man ihn DNA-Analysechip, DNA-Array oder DNA-Grid. Die Begriffe Analysechip und Analyse- und Diagnostikinstrument werden im weiteren synonym verwendet.

Herkömmliche Analysechips bestehen üblicherweise im wesentlichen aus einem Trägermaterial, in dessen Oberfläche Mulden geätzt sind, in die im Fall einer DNA-Analyse verschiedene DNA-Moleküle eingebunden sind. Durch das Inkontaktbringen einer zu untersuchenden DNA-Probe auf die in den Mulden ge-

1 bundenen DNA-Moleküle kann es zu einer Hybridisierung kommen, die Signale über die An- bzw. Abwesenheit und gegebenenfalls die Konzentration von Nucleinsäuren in der Hybridisierungslösung liefern. Ein spezieller Analysator liest die
5 Hybridisierungsdaten dann aus. Der Nachweis der Hybridisierungsreaktion erfolgt herkömmlicherweise durch optische Verfahren, wie beispielsweise durch Lichteinkopplung über ein Gitter. Bei der Massenanlagerung wird das evaneszente Feld gestört, wodurch eine Störung im Fernfeld meßbar ist. Herkömmliche Analysechips benutzen als Trägermaterial im allgemeinen Silizium, das ein nicht-transparentes Medium enthält,
10 auf dem die DNA-Moleküle in den Mulden gebunden sind.

Analoge, nicht hochintegrierte Systeme, wie ELISA-Systeme,
15 haben insbesondere die Nachteile, daß die zu untersuchende biologische Probe auf jedes Referenzmolekül in den Mulden einzeln aufgebracht werden muß, die Lichteinkopplung zum Nachweis der Hybridisierungsreaktion ineffizient ist, eine Justierung des Analysechips im Analysator schwierig ist, die
20 Verwaltung und Prozessierung von Daten und Parametern aufwendig ist und die Kosten für die Herstellung und den Betrieb sehr hoch sind.

Der Erfindung liegt daher die Aufgabe zugrunde, ein verbessertes Analyse- bzw. Diagnostikinstrument bzw. -verfahren
25 zur Verfügung zu stellen.

Zur Lösung dieser Aufgabe geht die Erfindung von dem Grundgedanken aus, einen Analysechip zur Untersuchung von biologischen Proben bereitzustellen, der im wesentlichen aus
30 einem Träger besteht, auf dessen Oberfläche mindestens eine Biomolekülmatrix aus einzelnen Punkten (Dots) auf einen Boden einer mikrofluidischen Struktur, wie z.B. einer Mäanderstruktur, oder eine planare Oberfläche aufgebracht ist. Die zu untersuchende biologische Probe wird an einem Ende der
35 mikrofluidischen Struktur aufgebracht und strömt entlang dieser Struktur zum anderen Ende, wobei die Probe beim Überströmen der jeweiligen Matrixpunkte, die jeweils eine indi-

1 viduelle Molekülspezies repräsentieren, bestimmte Reaktionen auslöst.

Diese Reaktion ist, sofern eine Nucleinsäure nachgewiesen werden soll, üblicherweise eine Hybridisierungsreaktion. Je
5 nach Einstellen der Hybridisierungsbedingungen (stringente oder nicht-stringente Hybridisierungsbedingungen) sind Moleküle in der Probe detektierbar, die einen mehr oder weniger großen Ähnlichkeits- bzw. Homologiegrad mit der komplementären Molekülspezies auf der Oberfläche oder einem Teil davon
10 aufweisen. Derartige Hybridisierungsbedingungen hängen beispielsweise von der Temperatur oder der Salzkonzentration in der Probe ab und können vom Fachmann nach üblichen Verfahren eingestellt werden. So kann beispielsweise die Salzkonzentration in einer Probe eingestellt werden. Die Einstellung
15 von Hybridisierungsbedingungen ist im Stand der Technik bekannt und kann z.B. auf der Basis der Lehre in Hames und Higgins, "Nucleic acid hybridisation, a practical approach", IRL Press, Oxford 1985 erfolgen.

20 Ist das in der biologischen Probe nachzuweisende Molekül ein Protein oder Peptid, so stehen dem Fachmann eine Reihe von Möglichkeiten zur Verfügung, wie er dieses mit dem erfindungsgemäßen Analysechip nachweisen kann. Eine Möglichkeit ist die Einbindung des Moleküls in einen Antikörper-Sandwich, wobei der nicht an die Oberfläche fixierte Antikörper
25 (oder ein Derivat davon) vorzugsweise nachweisbar markiert ist.

Selbstverständlich sind erfindungsgemäß auch andere Molekülarten in einer biologischen Probe mit dem Analysechip
30 nachweisbar.

Der Begriff "biologische Probe", wie erfindungsgemäß verwendet, bedeutet im weitesten Sinne, daß die Probe biologisches
35 Material wie Nucleinsäuren oder Proteine oder Derivate oder Fragmente davon enthält. Nucleinsäuren können beispielsweise durch Verfahren der rekombinanten DNA-Technologie modifi-

1 ziert, fragmentiert etc. worden sein. Proteine können z.B.
aus einer natürlichen Quelle vor der Analyse angereichert
worden sein. In einer Ausführungsform wird die Probe aus
einer natürlichen Quelle direkt in die Analyse überführt.

5 Zur erleichterten Datenverwaltung und -verarbeitung weist
der Analysechip ferner ein Speichermedium auf.

Das erfindungsgemäße Analyse- bzw. Diagnostikinstrument hat
10 gegenüber dem Stand der Technik insbesondere die Vorteile,
daß die zu untersuchende Probe nur an einer Stelle auf die
mikrofluidische Struktur aufgebracht werden muß, wodurch die
Verfahrenszeit erheblich reduziert werden kann, es auf ein-
fache und kostengünstige Weise herstellbar ist, da die
15 mikrofluidische Struktur gleichzeitig mit dem Träger herge-
stellt werden kann, die theoretische Signalstärke durch die
Mikrostrukturierung im Bereich der Proben verstärkt werden
kann, ein effizienterer Reaktionsnachweis möglich ist,
und/oder fertigungsrelevante und/oder sonstige Daten, wie
20 z.B. Konfiguration, Fertigungslos, Nullkontrolldaten, Pati-
entendaten, Verfallsdatum, Analyseergebnisse und ähnliches
direkt auf dem Analysechip gespeichert werden können. Ein
weiterer Vorteil besteht darin, daß die Ergebnisse der Ana-
lyse, aufgrund einer vorzugsweise mindestens doppelt redun-
25 dant vorhandenen Matrix, mit erheblich höherer Sicherheit
festgestellt werden können. Ferner erfolgt die Analyse mit
hoher Integrationsdichte und hoher Parallelität. Es sind nur
kleine Volumina der Proben erforderlich. Weitere Vorteile
sind die Miniaturisierung des Analysechips, die Möglichkeit
30 einer Realtime- und/oder Online-Auswertung zeitgleich mit
der Hybridisierungsreaktion.

Die Erfindung wird im folgenden anhand einer bevorzugten
Ausführungsform beispielhaft beschrieben. In den Zeichnungen
35 zeigt:

- 1 Fig. 1 ein Raumbild eines Analysechips gemäß der Erfindung;
Fig. 2 einen Schnitt entlang der Fläche II-II von Fig. 1
zur Verdeutlichung der Lichteinkopplung zum Nachweis
von Fluorochrommolekülen;
5 Fig. 3 das Detail III aus Fig. II; und
Fig. 4 das Prinzip der Lichteinkopplung zum Nachweis der
Massenanlagerung.

10 Das in Fig. 1 dargestellte Analyse- bzw. Diagnostikinstru-
ment 2 - kurz Analysechip - besteht im wesentlichen aus
einem Träger oder Tragrahmen 4, der im Querschnitt z.B. ein
U-förmiges Profil aufweist, das an seinen Enden geschlossen
ist, so daß unter einer Oberfläche 6 ein Hohlraum 8 vorgese-
15 hen ist. Auf der Oberfläche 6 des Trägers 4 ist eine mikro-
fluidische Struktur, z.B. eine Mäanderstruktur 10 vorgese-
hen, die in den Träger 6 oder bevorzugt in mindestens ein
vorzugsweise transparentes Medium 12 und 14 eingelassen ist.
Dieses transparente Medium 12 und 14 ist z.B. ein Einsatz
20 aus Glas, Quarzglas, Kunststoff, Silizium, Silikaten. Die
Mäanderstruktur 10 ist so ausgebildet, daß darin Punkte
(Dots) 16 einer Biomolekülmatrix aufgebracht werden können,
wobei jeder Punkt 16 der Matrix vorzugsweise eine individu-
elle Molekülspezies (DNA, RNA, Proteine, Peptide, Poly-
25 saccharide usw. repräsentiert. Die Mäanderstruktur 10 mit
den Dots 16 ist auf dem Analysechip 2 mindestens einmel vor-
handen, nämlich auf dem Medium 12, vorzugsweise jedoch min-
destens doppelt redundant, also auch mindestens auf dem Me-
dium 14 oder weiteren Medien (nicht dargestellt).

30 Ebenso ist es möglich, die Oberfläche des Analysechips bzw.
des Mediums 12 und 14 planar auszugestalten (ohne mikroflui-
dische Struktur) und die mindestens eine Biomolekülmatrix
darauf vorzusehen. In diesem Fall weist dann eine der Biomo-
lekülmatrix gegenüberliegende Fläche, die das fluidische Vo-
35 lumen mit der zu untersuchenden Probe enthält, die mikro-
fluidische Struktur auf. Der Analysechip 2 wird dann zur

1 Analyse auf diese Fläche aufgesetzt. Die mikrofluidische
Struktur 10 kann ferner sowohl auf der Oberfläche 6 des Ana-
lysechips 2 als auch auf der gegenüberliegenden Fläche vor-
gesehen sein.

5

Der Träger 4 des Analysechips ist vorzugsweise ein Kunst-
stoff, der durch Mikrospritzguß hergestellt wird. Als Trä-
germaterialien eignen sich insbesondere Derivate von Poly-
carbonat. Die kovalente Kopplung von Biomolekülen erfolgt
10 vorzugsweise an semifluidischen, gelartigen Polymeroberflä-
chen im Bereich der Proben (z.B. Polymerbrush). Die Poly-
meroberflächen besitzen eine eigene Hydrodynamik, wodurch
den Polymeroberflächen besondere hydrodynamische Eigenschaf-
ten verliehen werden und das Verhältnis zwischen Signal und
15 Hintergrundrauschen positiv beeinflusst wird. Semifluidische
Polymeroberflächen sind direkt auf der Oberfläche 6 des Ana-
lysechips synthetisiert und können als Nano- bis Mikrostruk-
turierung von Oberflächen i.a. als Polymerbrushes bezeichnet
werden. Die theoretische Signalstärke wird durch die semi-
20 fluidische Oberflächenstrukturierung im Bereich der Proben
verstärkt.

Zum Betrieb des Analysechips wird z.B. genetisches Material
25 aus einer zu untersuchenden biologischen Probe isoliert,
spezifisch amplifiziert und gegebenenfalls markiert. Das so
gewonnene Sondenmaterial wird mittels einer Vorrichtung,
z.B. einer Pipette oder Spritze, auf ein Ende der Mäander-
struktur 10 des Analysechips 2 aufgebracht. Die zu untersu-
30 chende biologische Probe bzw. das genetische Material über-
strömt entlang der Mäanderstruktur 10 die einzelnen Punkte
16 der Biomolekülmatrix, die jeweils eine individuelle Mole-
külspezies repräsentieren, und hybridisiert im Fall von min-
destens teilweise komplementären Biomolekülen.

35

1 Zur Analyse und Auswertung der Daten des Analysechips 2 ste-
hen dem Fachmann eine Reihe von Verfahren zur Verfügung.
Zwei prinzipielle Verfahren werden erfindungsgemäß bevor-
zugt. Einerseits kann die Auswertung durch eine Echt-Zeit-
5 Messung der Hybridisierung durch Nachweis der Massenanlage-
rung erfolgen, indem der Analysechip mit einem Gitterkoppler
versehen ist, der eine Störung des evaneszenten Felds verur-
sacht. Andererseits besteht die Möglichkeit, durch visuelle
oder opto-chemische Mittel nachweisbare Moleküle zwei Fluo-
10 rochrommoleküle nachzuweisen, die z.B. in das Sondenmaterial
(DNA, RNA) vor der Analyse eingebaut wurden.

Der in den Figuren 1 bis 3 dargestellte Analysechip gemäß
der Erfindung ist insbesondere für fluorochrommarkierte
15 Systeme geeignet. Der in Fig. 4 dargestellte Analysechip ist
zur Auswertung mit einem Hybridisierungsnachweis durch Mas-
senanlagerung geeignet.

Der Analysechip 2 weist am Außenrand des Trägers 4 Justier-
20 mittel 18, wie z.B. Justiernasen oder -einbuchtungen, auf,
so daß der beim Einlegen in einen Analysator (nicht darge-
stellt) zur Auswertung der Untersuchung genau justierbar
ist. Dies ist insbesondere deshalb vorteilhaft, weil die
einzelnen Dots 16 der Biomolekülmatrix sowie die Schleifen
25 der Mäanderstruktur 10 vorzugsweise selbst relativ dicht
beieinander liegen, z.B. mit einem Abstand zwischen 100 und
500 μm . Es wird sichergestellt, daß die einzelnen Punkte 16
des Analysechips 2 mit entsprechenden Auswerteelementen des
Analysators korrespondieren.

30 Der Analysechip 2 weist ferner mindestens ein Speichermedium
auf, das Betriebsdaten, fertigungsrelevante Daten wie z.B.
Konfiguration, Fertigungslos, Null-Kontrolldaten,
eingegebene Patientendaten, das Verfallsdatum,
35 Analyseergebnisse und weitere Hilfsdaten speichern kann. Das
Speichermedium ist vorzugsweise ein elektronischer

1 Speicherchip 20, ein Magnetstreifen 22 und/oder ein Barcode
24, kann jedoch auch jedes andere bekannte Speichermedium,
wie z.B. ROM oder RAM, sein.

5 Der in den Figuren 2 und 3 dargestellte Analysechip 2 weist
neben den mit Bezug auf Fig. 1 beschriebenen Merkmalen die
für den Nachweis von Fluorochrommolekülen vorteilhaften
Merkmale auf.

10 Die Analyse einer biologischen Probe in der Mäanderstruktur
10 des Analysechips 2 erfolgt dadurch, daß in einem Analysa-
tor der Analysechip 2 von der der Mäanderstruktur 16 abge-
wandten Seite, d.h. vom Hohlraum 8, beleuchtet wird, was in
Form des Pfeils 26 schematisch dargestellt ist. Die Unter-
15 seite 28 der Oberfläche 6 ist vorzugsweise mit einem opti-
schen Linsenfeld 30 versehen, das eine konfokale Beleuchtung
ermöglicht. Das Linsenfeld 30 ist vorzugsweise so ausgebil-
det, daß es sich genau unterhalb der Mäanderstruktur 10,
insbesondere genau unterhalb der Dots 16 befindet, so daß
20 die in Fig. 3 dargestellte Beleuchtung der einzelnen Dots 16
ermöglicht wird. Das Linsenfeld 30 und der Träger 4 des Ana-
lysechips 2 können aus einem einheitlichen Material beste-
hen, das in einem Schritt z.B. durch Mikrospritzguß herge-
stellt werden kann. Vorzugsweise befindet sich das Linsen-
25 feld 30 jedoch auf der Unterseite 28 des in den Träger 4
eingelegten transparenten Mediums 12 bzw. 14.

Die Beleuchtung 26 von der Unterseite 28 des Analysechips 2
bringt insbesondere den Vorteil, daß die Intensität der
30 Lichtquelle reduziert werden kann, da die Lichtstrahlen kei-
nen Strahlteiler durchlaufen müssen. Das einfallende Licht
26 wird durch die Linsen des Linsenfelds 30 auf die einzel-
nen Punkte 16 der Biomolekülmatrix fokussiert, wodurch die
Dots 16, die mit der zu untersuchenden Probe eine Reaktion
35 hervorgerufen haben, durch die Fluorochrommoleküle Fluores-
zenz bewirken. Weitere Möglichkeiten zum Nachweis der

1 Moleküle beruhen auf dem Prinzip der Biolumineszenz, z.B.
Phosphoreszenz, radioaktiven Markierungen, die durch
Auflegen von Röntgenfilmen nachgewiesen werden können. Durch
eine geeignete Auswerteschaltung, z.B. eine opto-
5 elektronische Schaltung, kann dann eine weitere Verarbeitung
der gewonnenen Daten bezüglich der zu analysierende Probe
erfolgen. Diese Daten können zusammen mit dem in dem
Speichermedium gespeicherten Daten weiter verarbeitet
und/oder in den Speicher des Analysechips 2 geschrieben
10 werden.

Fig. 4 zeigt die Lichteinkopplung für Analysechips, bei
denen der Hybridisierungsnachweis über den Nachweis der Mas-
senanlagerung erfolgt. Dazu wird ein optisches Verfahren
15 benutzt, bei dem die Lichteinkopplung über eine Vielzahl von
Gittern 32 erfolgt, wodurch das evaneszente Feld beeinflusst
wird. Diese Beeinflussung ist im Fernfeld 39 meßbar. Jedem
Punkt 16 der Biomolekülmatrix in der mikrofluidischen Struk-
tur 10 ist exakt ein optisches Gitter 32 zugeordnet, so daß
20 die Effizienz der Lichteinkopplung erheblich erhöht werden
kann. Das Licht 34 einer Beleuchtungsquelle wird über ein
zweidimensionales Linsenfeld 36 oder über ein zweidimensio-
nales Fresnel-Linsenfeld, z.B. ein Hologramm oder diffrak-
tive Optik, auf die in der Matrix angeordneten Gitter 32 fo-
25 kussiert. Dadurch kann ein effizienter Hybridisierungsnach-
weis durch den Nachweis der Massenanlagerung erzielt werden,
wenn eine Auswertung des Fernfelds erfolgt. Die gewonnenen
Analysedaten können zusammen mit den im Speichermedium ge-
speicherten Daten in einem Analysator (nicht dargestellt)
30 durch Verwendung geeigneter Auswerteschaltungen, z.B. opto-
elektronische Schaltungen, weiter verarbeitet und/oder in
den Speicher des Analysechips 2 geschrieben werden.

1 Die optischen Gitter 32 wurden vorzugsweise zusammen mit den
jeweiligen Punkten 16 der Biomolekülmatrix, die jeweils eine
individuelle Molekülspezies (DNA, RNA, Proteine, Peptide,
5 Polysaccharide usw.) repräsentieren, in die mikrofluidische
Struktur 10 eingebracht. Die zu untersuchende biologische
Probe durchläuft die mikrofluidische Struktur 16 (Mäander-
struktur) z.B. in Richtung der Pfeile 38. das Linsenfeld 36
befindet sich auf der von der Biomolekülmatrix abgewandten
Seite des Gitters 32. Es kann, ähnlich wie zuvor mit Bezug
10 auf die Figuren 2 und 3 beschrieben, ebenfalls im Hohlraum 8
des Analysechips 2 vorgesehen sein. Ebenso kann es zusammen
mit dem Träger 4 aus einem einheitlichen Material bestehen,
oder, vorzugsweise, an den transparenten Medien 12 und 14
vorgesehen sein.

15 Neben den mit Bezug auf die Figuren 2 bis 4 beschriebenen
Auswerteverfahren zur Auswertung der Analysechips 2 ist der
erfindungsgemäße Analysechip ebenso für weitere, nicht näher
beschriebene Auswerteverfahren geeignet.

20 Die Ausbildung der mikrofluidischen Struktur 16 als Mäander-
struktur ist lediglich exemplarisch, es sind vielmehr auch
beliebige andere mikrofluidische Strukturen, wie z.B. eine
Baumstruktur möglich.

25

30

35

Patentansprüche

1. Analysechip (2) zur Untersuchung von biologischen Proben, der einen Träger (4) aufweist, auf dessen Oberfläche (6) mindestens eine Biomolekülmatrix (16) durch kovalente Kopplung von Biomolekülen an semifluidische, gelartige Polymeroberflächen im Bereich der Proben aufgebracht ist.
2. Analysechip (2) zur Untersuchung von biologischen Proben, der einen Träger (4) aufweist, auf dessen Oberfläche (6) mindestens eine Biomolekülmatrix (16) aufgebracht ist, wobei die zu untersuchende biologische Probe über jede Biomolekülmatrix (16) strömt und der Analysechip (2) mindestens ein Speichermedium (20, 22, 24) aufweist.
3. Analysechip (2) nach Anspruch 1 oder 2, wobei der Träger (4) aus einem Kunststoff hergestellt ist.
4. Analysechip (2) nach Anspruch 3, wobei der Kunststoff insbesondere ein Derivat von Polycarbonat ist.
5. Analysechip (2) nach Anspruch 4, wobei die Biomolekülmatrix (16) durch kovalente Kopplung von Biomolekülen an semifluidische, gelartige Polymeroberflächen im Bereich der Proben aufgebracht ist.
6. Analysechip (2) nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Biomolekülmatrix einzelne Dots (16) aufweist.
7. Analysechip (2) nach Anspruch 6, wobei jeder Dot (16) der Biomolekülmatrix eine individuelle Molekülspezies repräsentiert.

- 1 8. Analysechip (2) nach einem der Ansprüche 1 bis 7, wobei
die Oberfläche (6), auf der die Biomolekülmatrix (16)
aufgebracht ist, planar ist.
- 5 9. Analysechip (2) nach einem der Ansprüche 1 bis 7, wobei
die Oberfläche (6) eine mikrofluidische Struktur (10)
aufweist, in der die Biomoleküle vorgesehen sind.
- 10 10. Analysechip (2) nach einem der vorhergehenden Ansprüche,
wobei der Träger (4) mindestens ein Medium (12, 14) auf-
weist, auf dem sich die Biomolekülmatrix (16) befindet.
- 15 11. Analysechip (2) nach Anspruch 10, wobei das Medium (12,
14) Glas, Quarzglas, ein Kunststoff oder Silicium-Sili-
kat ist.
- 20 12. Analysechip (2) nach einem der Ansprüche 1 bis 11, wobei
der Analysechip ferner mindestens ein Speichermedium
(20, 22, 24) aufweist.
- 25 13. Analysechip (2) nach einem der Ansprüche 1 bis 12 oder
12, wobei das Speichermedium ein elektronischer Spei-
cherchip (20), ein Magnetstreifen (22) und/oder ein Bar-
code (24) ist.
- 30 14. Analysechip (2) nach einem der vorherigen Ansprüche, wo-
bei der Träger (4) ferner Justiermittel (18) zum exakten
Einlegen in einen Analysator aufweist.
- 35 15. Analysechip (2) nach einem der Ansprüche 3 bis 14, wobei
der Träger (4) ein Mikrospritzguß-Element ist.
16. Analysechip (2) nach einem der vorhergehenden Ansprüche,
wobei die Biomolekülmatrix (16) mindestens doppelt re-
dundant vorhanden ist.

- 1 17. Analysechip (2) nach einem der Ansprüche 9 bis 16, wobei
die mikrofluidische Struktur (10) einen mäanderförmigen
Kanal bildet.
- 5 18. Analysechip (2) nach einem der vorhergehenden Ansprüche,
wobei an einer Unterseite (28) des Trägers (4) ein opti-
sches Linsenfeld (30; 36) vorgesehen ist.
- 10 19. Analysechip (2) nach Anspruch 18, wobei das Linsenfeld
(36) ein zweidimensionales Fresnel-Linsenfeld ist.
20. Analysechip (2) nach einem der vorhergehenden Ansprüche,
wobei entsprechend der Biomolekülmatrix (16) eine Viel-
zahl optischer Gitter (32) vorgesehen ist.
- 15 21. Analysechip (2) nach einem der vorhergehenden Ansprüche,
wobei zur Auswertung der biologischen Proben der Analy-
sechip (2) so ausgestaltet ist, daß die Biomolekülmatrix
(16) von einer der der Oberfläche (6) gegenüberliegenden
20 Unterseite (28) mit Lichtstrahlen (26; 34) von einer
Lichtquelle beaufschlagt werden kann.
22. Verwendung des Analysechips (2), insbesondere nach einem
der vorhergehenden Ansprüche, zur Untersuchung von DNA-,
RNA-Molekülen, Proteinen, Peptiden und/oder Polysaccha-
25 riden.
23. Verfahren zur Analyse von Biomolekülen auf einem Analy-
sechip, insbesondere nach einem der vorhergehenden An-
sprüche, mit den folgenden Verfahrensschritten:
- 30 (a) Aufbringen einer zu analysierenden Probe auf eine
Oberfläche (6), die mindestens eine Biomolekülmatrix
(16) aufweist;
- (b) Überströmen der Biomolekülmatrix (16) durch die
Probe entlang einer mikrofluidischen Struktur;
- 35 (c) Einlegen des Analysechips (2) in einen Analysator;
und
(d) Auswerten des Analysechips (2).

1

24. Verfahren nach Anspruch 23, wobei die Auswertung des Analysechips (2) durch Einstrahlen von Licht von einer Unterseite (28) des Analysechips (2) erfolgt.

5

10

25. Verfahren nach Anspruch 23 oder 24, wobei die Auswertung des Analysechips (2) durch Lichteinkopplung über ein optisches Linsenfeld (36) und Gitter (32) erfolgt, wobei jedes Gitter (32) jeweils einem Punkt (16) der Biomolekülmatrix zugeordnet ist und das optische Linsenfeld (36) die einfallenden Lichtstrahlen auf die jeweiligen Gitter (32) fokussiert, so daß bei einer Massenanlagerung das evaneszente Feld beeinflußt und diese Beeinflussung im Fernfeld meßbar wird.

15

20

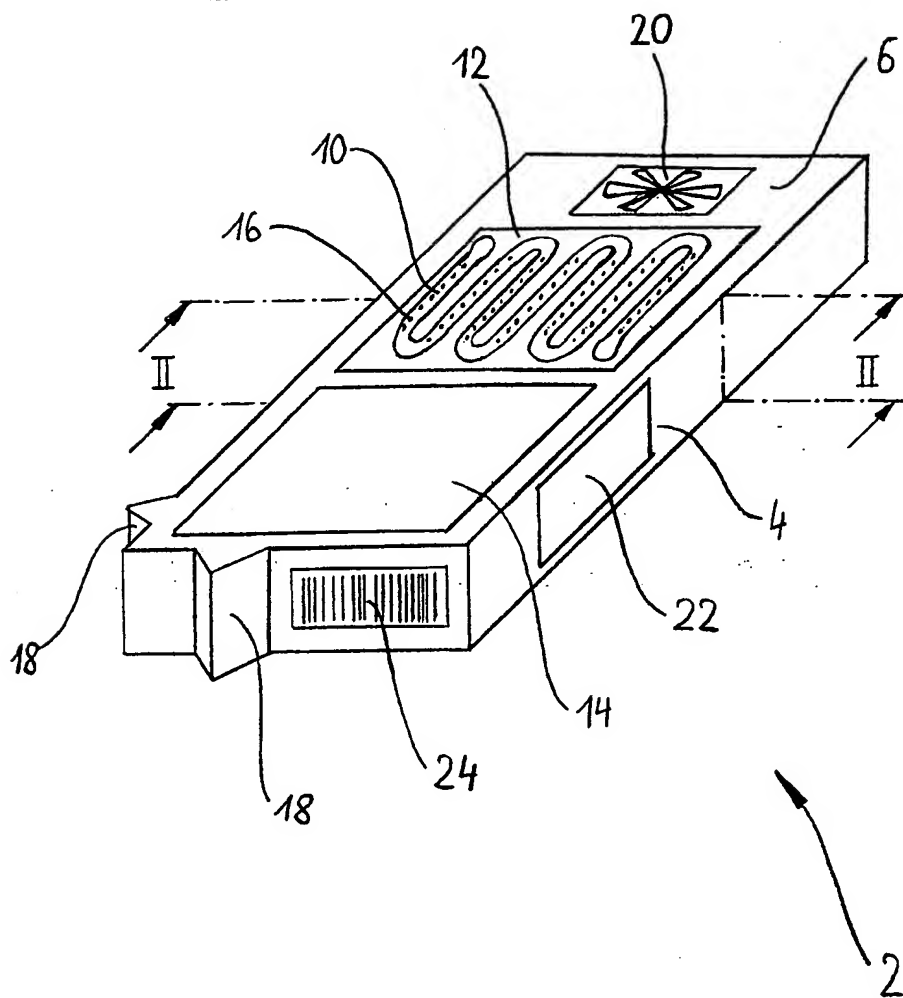
26. Verfahren nach Anspruch 23 oder 24, wobei die Auswertung des Analysechips (2) durch Lichteinkopplung über ein Linsenfeld (36) erfolgt, das am Analysechip (2) integriert ist und eine konfokale Beleuchtung bewirkt, so daß entsprechend markierte Systeme einen optisch erkennbaren Reaktionsnachweis liefern.

25

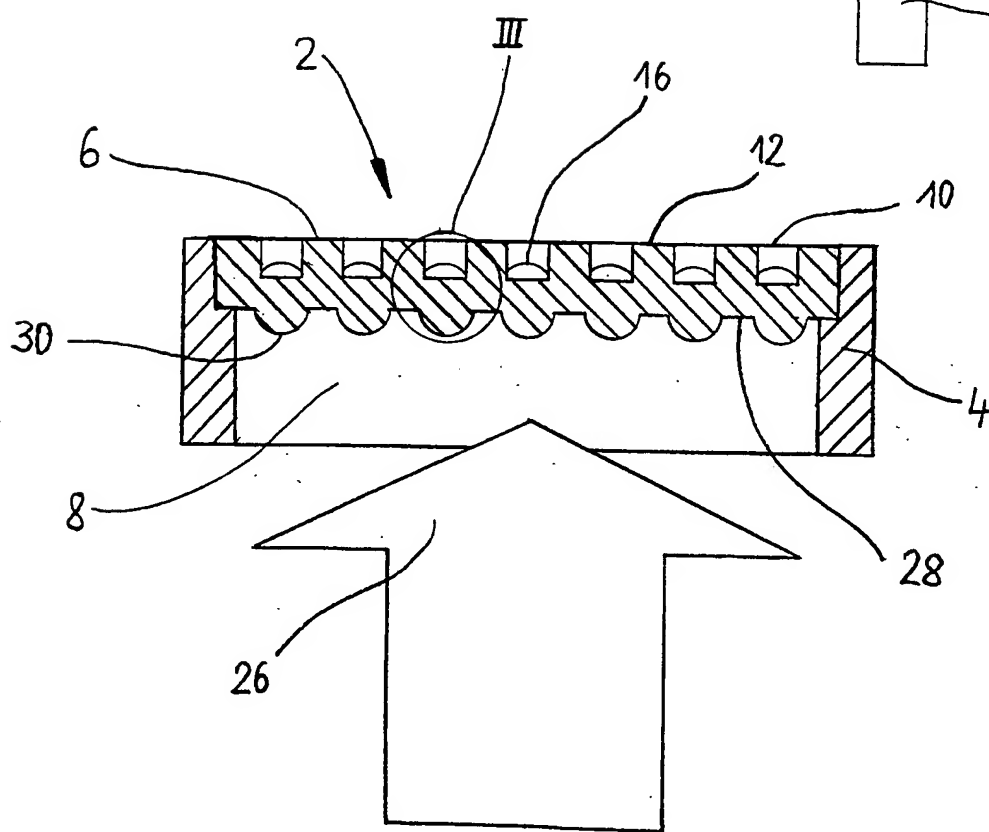
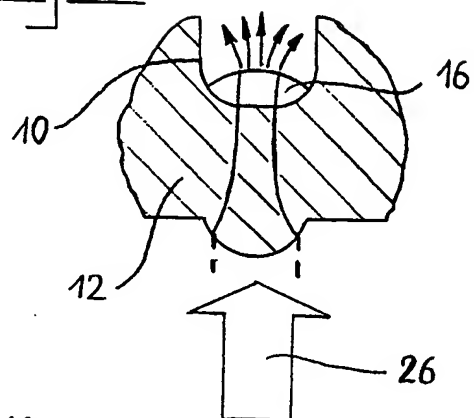
30

35

1/3

Fig. 1

2/3

Fig. 2Fig. 3

3/3

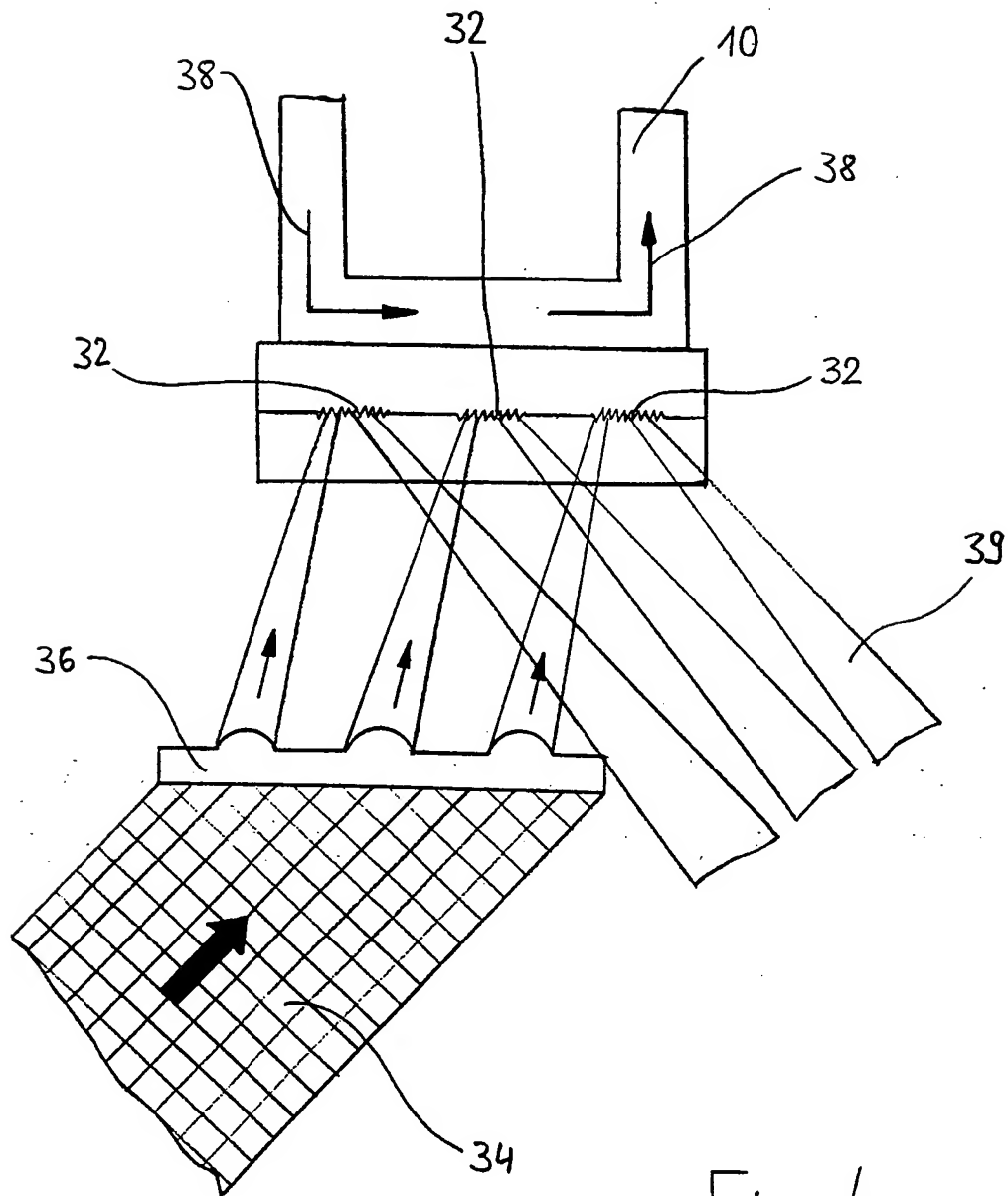


Fig. 4

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☒ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.